

시간에 따른 의치접착제의  
인장 결합강도와 세포독성의 변화

연세대학교 대학원

치 의 학 과

정 하 윤

시간에 따른 의치접착제의  
인장 결합강도와 세포독성의 변화

지도 문 홍 석 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2008년 7월 일

연세대학교 대학원

치 의 학 과

정 하 윤

# 정하윤의 석사 학위논문을 인준함

심사위원\_\_\_\_\_인

심사위원\_\_\_\_\_인

심사위원\_\_\_\_\_인

연세대학교 대학원

2008년 7월 일

## 감사의 글

이 논문이 완성되기까지 끊임없는 지도와 격려, 세심한 배려를 해주신 문홍석 교수님께 진심으로 감사를 드립니다. 또한 논문 작성과 심사에 귀중한 조언과 격려를 해주신 이근우 교수님, 심준성 교수님께도 깊은 감사를 드립니다.

바쁘신 가운데에서도 항상 따뜻한 관심과 조언으로 지켜봐 주신 정문규 교수님, 한동후 교수님, 배은경 교수님, 이재훈 교수님, 김지환 선생님께도 감사드립니다.

실험에 대해 가르침과 조언을 아끼지 않으신 치과 재료학 교실 김광만 교수님, 시간을 쪼개서 실험에 대해 친절히 가르쳐준 김우현 선생님, 문승균 선생님께 감사드립니다. 논문이 완성되는 동안 힘든 시기에 동기라는 이름만으로도 서로 의지가 되며 늦게까지 함께 일하던 경수, 영주오빠, 레미, 형준이, 지우언니에게 큰 도움과 위안이 되었다고 전해주고 싶습니다. 아울러 보철과 의국 선후배 선생님들의 배려에 감사의 뜻을 전합니다.

항상 사랑으로 보살펴주시고 격려해주시는 부모님, 오빠, 그리고 부족한 며느리를 너그러이 감싸주시는 시부모님께 감사드립니다. 끝으로 기쁠 때나 힘들 때나 항상 함께하며 힘이 되어준 동료이자 동반자인 사랑하는 경수에게 큰 고마움을 전합니다.

2008 년 7월

정하윤 드림

## 차 례

그림 및 표 차례 .....	ii
국문 요약 .....	iv
I. 서론 .....	1
II. 연구 재료 및 방법 .....	4
가. 연구 재료 .....	4
나. 연구 방법 .....	7
1. 세포독성 실험 .....	7
2. 인장 결합강도 .....	8
3. 통계처리 .....	10
III. 연구 결과 .....	11
1. 세포독성 실험 결과 .....	11
2. 인장 결합강도 실험 결과 .....	12
IV. 총괄 및 고찰 .....	16
V. 결론 .....	22
VI. 참고문헌 .....	23
영문요약 .....	27

## 표 차례

Table I . Compositon of denture adhesive cream .....	4
Table II . Compositon of artificial saliva .....	7
Table III. Grades of cytotoxicity corresponding to cell proliferation percentage .....	8
Table IV. MTT cytotoxicity test : the means and standard deviations of optical density .....	11
Table V . Cell proliferation percentage and cytotoxicity grade .....	12
Table VI. The means and standard deviations of tensile bond strength(N) with statistical comparison using one-way ANOVA and LSD post hoc test .....	13
Table VII. The means and standard deviations of tensile bond strength(N) according the time with statistical comparison using one-way ANOVA and LSD post hoc test .....	14

## 그림 차례

Figure 1. Dentiform and denture base used to test tensile bond strength of denture adhesive .....	6
Figure 2. Position of the test specimen for measurement of tensile bond strength .....	9
Figure 3. Change of optical density at time and concentration .....	11
Figure 4. Tensile bond strength of saliva(S), adhesive(A), adhesive and saliva(A+S) .....	13
Figure 5. Tensile bond strength(N) change according to time .....	15

## 국문 요약

### 시간에 따른 의치접착제의 인장 결합강도와 세포독성의 변화

많은 의치 환자들은 의치의 유지력, 안정성 그리고 저작기능을 향상시키기 위해 의치접착제를 사용하고 있다. 이상적인 의치접착제는 독성이나 자극이 없고, 구강점막에 편안함을 제공하고, 나쁜 냄새나 맛이 없어야 한다. 쉽게 적용, 제거할 수 있어야 하고, 충분한 시간동안 지속적으로 기능이 유지되어야 하며 중성 pH를 유지하여 치아와 구강미생물에 변화를 야기해서는 안 되며 다른 재료와 반응해서도 안 된다.

본 연구의 목적은 의치접착 크림의 세포독성 여부를 확인하고, 의치접착제의 효과와 시간에 따른 유지력의 변화를 알아보고자 하였다.

의치접착크림의 세포독성 여부를 알아보기 위해 mouse 섬유아세포를 이용한 MTT 시험을 통해 의치접착크림의 농도와 1일에서 4일까지의 시간에 따른 세포독성 여부를 평가하였다. 인장 결합강도를 측정하기 위해 무치악 텐티폼과 이에 맞는 의치상을 제작하여 의치접착크림을 도포하였을 때 유지력의 향상 정도와 1시간에서 3일까지 유지력의 변화를 알아보기 위해 인장 결합강도를 측정 비교하여 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

1. 의치접착크림은 농도와 시간에 따라 세포독성이 관찰되는 것은 없었다.
2. 의치접착크림과 인공타액을 동시에 사용한 경우 통계학적으로 가장 높은 인장 결합강도를 나타내었고, 의치접착크림을 단독으로 사용한 경우보다 인장 결합강도가 통계학적으로 유의성 있게 높았다. 이는 인공타액과 의치접착크림의 인장 결합강도의 단순 합계보다 높았다.



3. 의치접착크림과 인공타액을 동시에 사용한 군에서 도포 후부터 1시간 후까지 인장 결합강도는 최대치를 기록하였고 3시간부터 인장 결합강도는 점차 감소하기 시작하여 12시간 후에는 최대 인장 결합강도의 70%, 1일 후에 50%까지 감소하였다.

이상의 결과를 토대로 의치접착크림은 1일에서 4일까지 세포독성이 없었고 의치의 유지력을 향상시키는데 효과적이며, 타액과 같이 작용하여 효과를 더 발휘할 수 있었다. 향후 장기적인 사용에 따른 다양한 세포독성 실험과 접착력의 감소에 대한 연구가 필요하리라 사료된다.

---

핵심어 : 의치접착제, 인장 결합강도, 세포독성, MTT test

# 시간에 따른 의치접착제의 인장 결합강도와 세포독성의 변화

(지도 문홍석 교수)

연세대학교 대학원 치의학과

정 하 윤

## I. 서 론

많은 의치 환자들은 의치의 유지력, 안정성 그리고 저작기능을 향상시키기 위해 의치접착제를 사용하고 있다(Chew, 1985; Grasso, 2004). 이러한 의치 접착제는 환자가 의사의 처방 없이 손쉽게 구입할 수 있다. 한 보고에 의하면 미국에서 5만 명이 의치접착제를 사용하고 있고, 75%의 치과의사가 의치접착제의 사용을 추천한다고 하였다(Grasso, 1996).

비록 의치접착제의 사용은 증가하고 있지만 치과의사는 이러한 재료에 대하여 긍정적이지는 않다. 의치접착제의 부적절한 사용은 잘 맞지 않는 의치를 수정하지 않고 계속 사용할 수 있고, 잔존 치조제를 흡수시키며, 교합고경을 증가시키고, 알러지나 자극의 원인으로 작용하며, 구강 미생물을 변화시킬 것이라고 생각한다. 또한 의치접착제의 사용이 의치를 제작하는 치과의사의 임상 기술이 떨어지는 것을 반영하고 스스로 인정하는 것이라고 여기기 때문이다(Grasso, 2004).

하지만 최근 의치접착제에 대한 연구에 의하면 의치접착제에 의한 골 흡수 증가나 교합고경의 증가, 교합의 변화는 관찰되지 않았고(Norman et al., 1987), 오히

려 의치접착제를 사용하여 저작효율이 증가되고 의치 하방에 음식물이 끼는 것이 줄어들었다고 보고되고 있다(Adisman, 1989). 또한 의치를 처음 사용하는 환자와 골흡수가 심한 환자에서 의치를 적응하는데 도움을 주고, 의치를 제작하는 동안 시적하는 과정에서 의치접착제를 사용함으로써 정확도가 증가될 수 있고, 임시의치를 쓰는 동안의 불편함도 덜어준다고 한다(Grasso, 2004).

의치접착제의 성분은 서로 다른 용해도를 가지는 혼합된 중합체로서 이들이 접착작용을 한다. 중합체 혼합물 안에는 짧은 시간 안에 접착력이 발생하면서 지속 시간이 짧은 성분과 천천히 접착력이 발생하여 오래 지속되는 것이 혼합되어 있어 의치접착제의 효과를 빠르고 오래 지속되도록 해준다. 크림형태의 의치접착제에는 petrolatum, mineral oil, polyethylene oxide등의 결합제가 있어 구강내의 위치를 용이하게 해준다. Peppermint oils, menthol을 첨가하여 향을 내고, 색을 내기 위해 염색제가 포함되며, sodium borate와 methyl 혹은 poly-paraben이 보존제로 첨가된다.

의치 접착제는 의치를 제작하는 과정에서 약간교합관계 채득 시 의치상을 시적할 때 사용할 수 있다. 다수 치아를 발치한 경우 발치와가 치유되고 연, 경조직이 윤곽을 형성할 때까지 6개월 이상이 소요된다. 이때 즉시 의치를 사용하게 되면 시간이 흐름에 따라 의치는 잘 안 맞게 되는데 의치접착제는 즉시 의치의 유지와 안정에 도움을 줄 수 있다. 또한 악안면 수술을 받은 환자나 치조제의 흡수가 심한 환자의 임시의치나 최종의치에서 사용될 수 있고 구강 건조증 환자는 의치를 유지하기 위한 타액이 부족하기 때문에 건조증 정도에 따라 의치접착제가 추천될 수 있다. 의치를 처음 사용하는 환자에서 최소한의 의치접착제를 사용하여 의치에 대한 적응력을 높일 수 있다.

하지만 의치접착제는 잘 맞지 않는 의치에서는 사용해서는 안 된다. 물론 잘 맞지 않는 의치에서도 의치접착제의 효과는 좋지만 그렇기 때문에 환자들이 잘못 사용하여 이장재처럼 쓸 가능성이 있기 때문이다. 따라서 주기적인 전문가의 평가 없이 의치접착제를 지속적으로 사용해서는 안 된다(Grasso, 2004).

이상적인 의치접착제는 독성이나 자극이 없고, 구강점막에 편안함을 제공하고, 나쁜 냄새나 맛이 없어야 한다. 쉽게 적용, 제거할 수 있어야 하고, 충분한 시간동

안 지속적으로 기능이 유지되어야 하며 중성 pH를 유지하여 치아와 구강미생물에 변화를 야기해서는 안 되며 다른 재료와 화학적으로 반응해서도 안 된다 (DeVengencie et al., 1997).

구강 내에서 사용되고 그 지속 시간이 길며 구강 점막과 직접 접촉하는 이러한 재료는 반드시 세포독성 실험을 거쳐야 한다. 또한 환자들이 실제 의치접착제를 사용할 때 적용 시간이나 사용량을 제조사에서 지시하는 것보다 더 길게 사용하거나 더 많이 사용할 수 있기 때문에 세포독성 실험에서는 이러한 사항이 포함되어야 한다. 세포독성을 평가하는 방법으로는 agar diffusion, filter diffusion, tetrazolium-based 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide (MTT)시험 등이 있다. Agar diffusion test는 세포막 보전정도로, filter diffusion test와 MTT 시험은 미토콘드리아의 활성 상태로 독성 여부를 평가한다. Filter diffusion test는 재료가 filter를 통과해서 세포에 전달되어야 하므로 용출액이 물에 용해되어야 한다는 것이 MTT 시험과 차이다(Al et al., 2005).

본 연구의 목적은 흔히 사용되고 있는 의치 접착제에 대하여 시간과 농도에 따른 세포독성 여부를 확인하고, 의치접착제의 인장 결합강도를 측정하여 유지력 향상의 효과와 시간에 따른 유지력의 변화를 알아보고자 하였다.

## II. 연구 재료 및 방법

### 가. 연구 재료

#### 1. 의치 접착제

이번 실험에서는 Polident<sup>®</sup> denture adhesive cream(GlaxoSmithKline, Stafford Miller, Ireland)을 사용하였다(Table I ).

Table I . Compositon of denture adhesive cream

Component			Content (% w/w)
Vehicle	Mineral Oil	Light	17.0
	Petrolatum	Blend	27.9
Flavor	Spray Dried	Peppermint	0.2
	Spray Dried	Spearmint	0.2
Color	Erythrosine	Lake Paste	0.6
Adhesives	Carboxymethylcellulose	Sodium	24.0
	Poly(methylvinylether.maleicacid)	Sodium, CalciumMixedPartialSalt	30.0
Preservative	Propylparaben	NF	0.05

## 2. 세포독성 실험

RPMI 1640 medium(Gibco, Grand Island, New York, U.S.A.)을 이용하여 Polident<sup>®</sup> 의치접착크림의 용출액을 만들었다. RPMI 1640과 의치접착크림을 1%(1g/100mL), 2% 농도로 섞은 뒤 5% CO<sub>2</sub> , 95% air, 37℃로 CO<sub>2</sub> incubator (Vision Scientific CO., LTD, Gyeonggi-do, Korea)에서 24시간 배양하였다. 원심분리기를 이용하여 1200rpm으로 3분간 원심분리 한 후 용출액을 MTT 시험에 사용하였다(Al et al., 2005; DeVengencie et al., 1997).

Mouse 섬유아세포(L-929, Korea Cell Line Bank)를 RPMI 1640에 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco, Grand Island, New York, U.S.A.)과 혼합하여 만든 배지에서 5% CO<sub>2</sub> , 95% air, 37℃로 배양하였다. 배양 후 배지를 흡입하여 제거하고 5ml Phosphate-buffered saline(PBS, Gibco, Grand Island, New York, U.S.A.)로 세척하여 불순물을 제거하였다. 2ml Trypsin(Gibco, Grand Island, New York, U.S.A.)을 적용하여 세포 배양 플라스크에 붙어있는 세포를 분리하였다.

## 3. 인장 결합강도

### 3.1. 의치상 제작

무치악 상악 dentiform(Frasaco, Greenville, North Carolina, U.S.A.)과 이에 맞는 의치상을 Lucitone 199<sup>®</sup> methylmethacrylate resin(Densply, York, Pennsylvania, U.S.A.)을 이용하여 열중합 방법으로 제작하였다. Fit Checker II(GC corporation, Tokyo, Japan)를 이용하여 제작된 의치상과 텐티폼 사이에 적합도를 확인하여 undercut이 없는 것을 확인하였다. 만능시험기(Instron, model 3366, Instron Corp,

Nowood, Massachusetts, U.S.A.)에 연결하기 위한 손잡이를 의치 제작과정에서 의치상의 상방 중앙에 만들어 의치상과 일체형으로 제작하였다. 덴티폼의 손잡이 위치를 찾기 위해 의치상과 덴티폼을 붙이고 의치의 손잡이를 만능시험기에 연결한 후 의치 손잡이와 일직선상에 위치하도록 덴티폼에 손잡이를 부착하였다(Fig. 1).



Fig. 1. Dentiform and denture base used to test tensile bond strength of denture adhesive.

### 3.2. 인공타액

실험에 필요한 인공타액을 Table II의 조성으로 제조하였다. 4인 이상에서 20분간 Paraffin wax(Dentocult LB, Orion Diagnostica, Finland)를 씹어서 나온 자극성 타액을 채취하고 24시간 냉장보관 후 하부 침전물을 제외한 상층액을 동량으로 섞어서 실험에 사용하였다(Gerrard et al., 1986).

Table II. Composition of artificial saliva

Component	Content
distilled water	2000ml
gastric mucin	4.4g
NaCl	0.762g
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.426g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.476g
KCl	2.228g
pH	6.8

## 나. 연구 방법

### 1. 세포독성 실험

세포독성 실험은 미토콘드리아의 탈수소효소 작용을 보는 tetrazolium-based 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide(MTT) 시험법을 아래와 같이 이용하였다.

세포를 hemocytometer(Superior Marien Feld, Germany)를 이용하여 96-well plates(Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey, U.S.A.)에  $1 \times 10^4$  cells/well의 세포를 180 $\mu$ l씩 분주하였다. 이를 5% CO<sub>2</sub>, 95% air, 37℃로 24시간 배양하였다. 각 well에 1%, 2%의 의치접착크림 용출액을 20 $\mu$ l씩 첨가하고(control group은 RPMI 1640을 첨가) 1일, 2일, 3일, 4일간 5% CO<sub>2</sub>, 95% air, 37℃로 배



양하였다. 각각 배양이 끝난 후 MTT(Sigma, St. Louis, Missouri, U.S.A.)를 Phosphate-buffered saline에 녹인 용액(PBS 1ml/MTT 5mg)을 20μl씩 넣고 4시간동안 배양하였다. MTT용액을 흡입하여 제거하고 dimethyl sulfoxide(DMSO, AMRESCO, St. Louis, Missouri, U.S.A.) 200μl를 넣은 뒤 formazan이 용해되도록 30분간 배양하였다. Spectrophotometer(Dynathch Laboratories, Chantilly, Virginia, U.S.A.)를 이용하여 570nm 파장에서 흡광도(OD : optical density)를 측정하였다. 세포증식비율(P)을 계산하기 위해 다음의 식을 사용하였다.

$$P \text{ (세포증식비율)} = \frac{\text{Sample optical density}}{\text{Control optical density}} \times 100\%$$

Table III에 따라 세포독성 정도를 평가하였다(Al et al., 2005).

Table III. Grades of cytotoxicity corresponding to cell proliferation percentage

Cell proliferation	Cytotoxicity grade
60-100	Not cytotoxic
30-60	Moderate cytotoxic
0-30	Severe cytotoxic

## 2. 인장 결합강도

의치 내면에 인공타액 0.2ml (group 1), 의치접착크림 1.0g (group 2), 의치접착크림 1.0g + 인공타액 0.2ml (group 3)을 도포하고 2kg 무게로 15초 동안 압접하

였다. 인공타액과 의치접착크림 적용량은 적합했을 때 의치를 위치시키는데 방해하지 않으면서 하중을 가했을 때 밖으로 빠져나오는 양이 없도록 다양한 조합으로 반복 실험하여 결정하였다. 하중을 제거하고 30초를 기다린 다음 만능시험기(Instron, model 3366, Instron Corp, Norwood, Massachusetts, U.S.A.)에 연결하고 cross head speed 1mm/min으로 인장력을 가하여 탈락하는 힘을 측정하였다(Fig 2). 각 군당 5회 측정하고 각 회마다 의치와 덴티폼을 물로 닦은 후 paper towel로 건조시키고 83% 에탄올로 닦고 다시 paper towel로 건조시켰다(Koppang, 1995). 모든 실험에서 같은 덴티폼과 의치를 사용하였다.



Fig. 2. Position of the test specimen for measurement of tensile bond strength.

시간에 따른 인장 결합강도의 변화를 보기 위해 group 3을 37℃, 100% 습도로 고정되어 있는 water bath(Vision Scientific CO., LTD, Gyeonggi-do, Korea)에 1시간, 3시간, 6시간, 12시간, 1일, 2일, 3일 동안 덴티폼과 의치를 분리하여 의

치접착크림이 도포된 면이 100% 습도에 노출되도록 보관한 후 실험을 반복하였다. 측정 시간마다 5회 반복 측정하였고 매 회마다 인공타액 0.2ml을 첨가하여 실험하였다.

### 3. 통계처리

통계 프로그램은 SPSS 12.0(SPSS Inc., Chicago, Illinois, U.S.A.)을 이용하였다. 세포독성 실험에서 control group과 실험군에서 배양일과 농도에 따라 흡광도의 차이가 있는지 검정하기 위해 two-way ANOVA를 시행하였다. 인장 결합강도에서 군간, 보관 시간 사이에 차이가 있는지 검정하기 위해 각각 one-way ANOVA를 시행하였다. 다중 비교(multiple comparison) 방법으로는 최소 유의차 검정법(Least significant difference, LSD method)을 이용하여 사후 검정하였다( $\alpha=0.05$ ).

### Ⅲ. 연구 결과

#### 1. 세포독성 실험 결과

MTT 시험에 따른 결과 의치접착크림 농도와 보관 시간에 따른 흡광도의 평균과 표준편차를 계산하였다(Table IV, Fig 3). 보관시간이 늘어남에 따라 세 군의 흡광도가 증가하였고 이는 세포 활성도가 증가하였다는 것을 의미한다.

Table IV. MTT cytotoxicity test: the means and standard deviations of optical density

	1 day	2 days	3 days	4 days
control	0.82(0.10)	1.51(0.23)	2.03(0.16)	2.44(0.20)
1%	0.64(0.07)	1.25(0.25)	1.48(0.22)	1.70(0.23)
2%	0.70(0.10)	1.21(0.19)	1.58(0.33)	1.71(0.30)

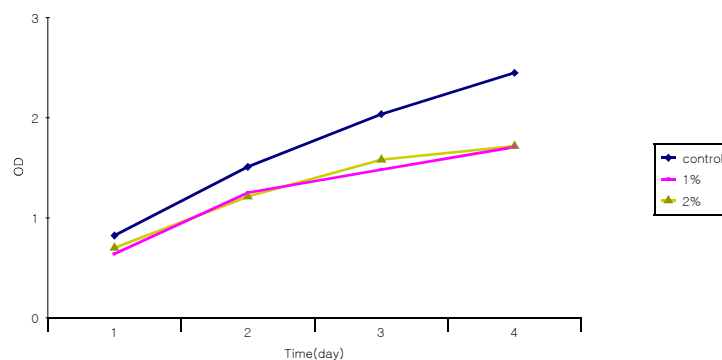


Fig. 3. Change of optical density at time and concentration.

control group을 기준으로 세포활성도의 백분율을 계산하여 세포독성 정도를 평가하였다(Table V). 모든 군에서 시간별로 60%이상을 나타냈고 세포독성은 없는 것으로 판단하였다.

Table V. Cell proliferation percentage and cytotoxicity grade

P	1 day	2 days	3 days	4 days	Cytotoxicity
Control	100	100	100	100	Not
1%	77.84	82.93	72.82	69.80	Not
2%	85.06	80.33	77.68	70.11	Not
Cytotoxicity	Not	Not	Not	Not	

## 2. 인장 결합강도 실험 결과

인공타액과 의치접착크림, 그리고 의치접착크림과 인공타액의 혼합물을 개제 후 의치와 텐티폼간의 인장 결합강도를 측정하여 평균과 표준편차를 계산하였다 (Table VI, Fig 4). one-way ANOVA를 시행하고 LSD로 사후 검정 결과, 의치접착크림과 인공타액을 같이 사용한 경우 통계학적으로 유의성 있게 가장 높은 인장 결합강도를 나타내었고, 인공타액의 인장 결합강도가 가장 낮았다( $p<0.05$ ).

Table VI. The means and standard deviations of tensile bond strength(N) with statistical comparison using one-way ANOVA and LSD post hoc test

	Mean	SD	Statistical comparison
Saliva	0.68	0.09	a
Adhesive	41.88	3.29	b
Adhesive + Saliva	45.76	3.04	c

\* Identical letters denote no significant differences between the groups( $p>0.05$ ).

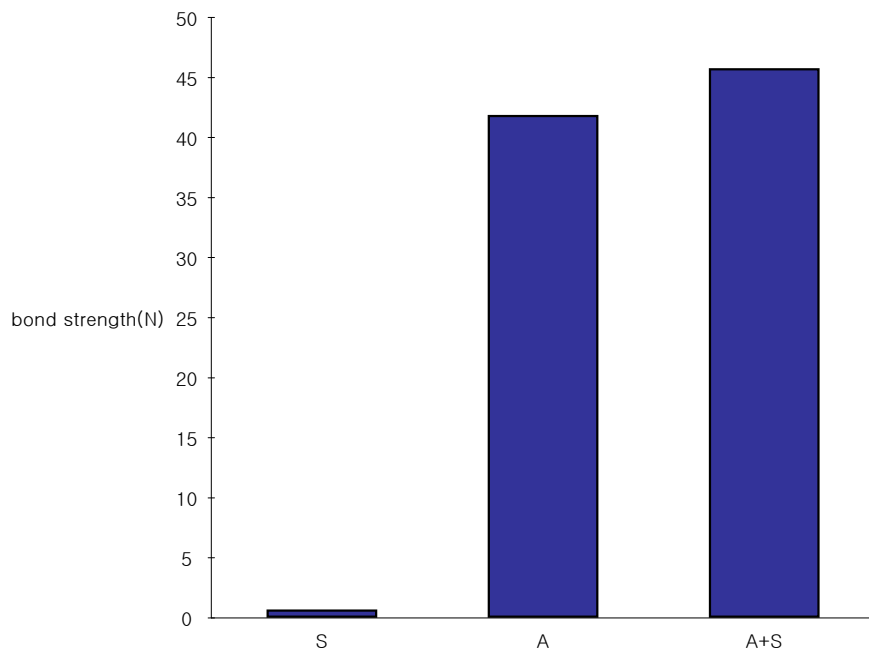


Fig. 4. Tensile bond strength of saliva(S), adhesive(A), adhesive and saliva(A+S).

의치접착크림과 인공타액을 같이 사용한 군에서 시간에 따른 인장 결합강도를 측정하여 평균과 표준편차를 계산하였다(Table VII, Fig 5). one-way ANOVA를 시행하고 LSD로 사후 검정한 결과를 보면, 즉시부터 1시간까지는 통계학적으로 유의성 있는 차이는 없었으며 가장 높은 인장 결합강도를 나타냈다( $p>0.05$ ). 1시간 후와 3시간 후, 6 시간 후와 12시간 후, 12시간 후와 1일 후, 2일 후와 3일 후 사이에 통계학적으로 유의성 있는 인장 결합강도의 감소를 보였다( $p<0.05$ ).

Table VII. The means and standard deviations of tensile bond strength(N) according the time with statistical comparison using one-way ANOVA and LSD post hoc test

	Mean	SD	Statistical comparison
0 hr	45.76	3.04	a
1 hr	44.12	3.38	a
3 hrs	40.03	3.74	b
6 hrs	37.97	1.93	b
12 hrs	32.08	3.03	c
1 days	22.04	2.87	d
2 days	18.33	3.84	d
3 days	11.33	1.15	e

\* Identical letters denote no significant differences between the groups( $p>0.05$ ).

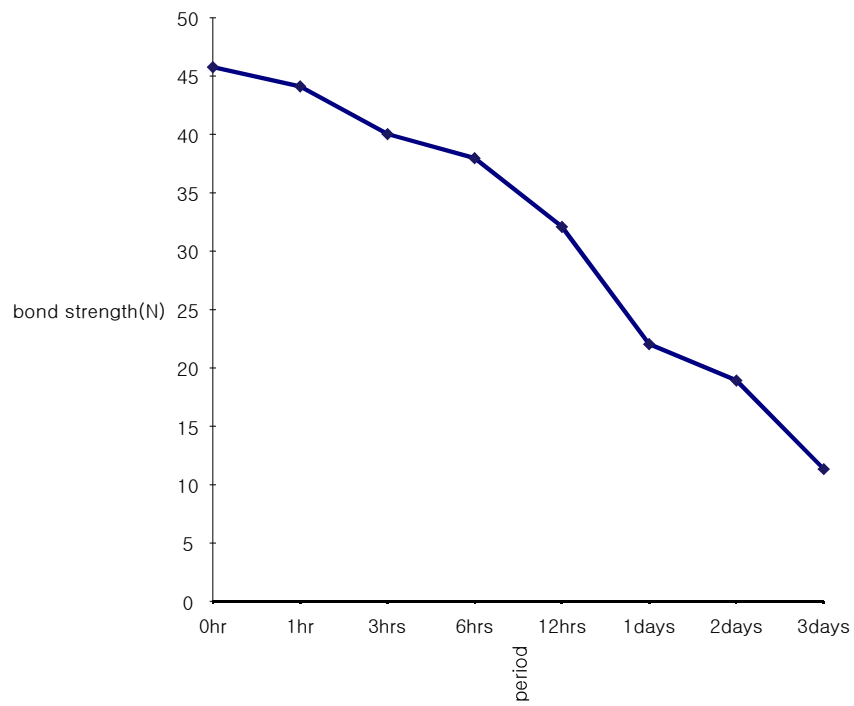


Fig. 5. Tensile bond strength(N) change according to time.



## IV. 총괄 및 고찰

이번 연구에서는 의치접착제의 세포독성 여부를 실험하여 구강 조직에 직접 접촉하는 재료로서 독성이 없는지 평가하고, 인장 결합 강도를 측정하여 시간에 따른 의치접착제의 접착력 변화를 관찰하였다.

본 실험에서 의치접착크림의 세포독성 여부를 알아보기 위해 MTT 시험법을 사용하였다. 이는 단순히 비활성이거나 비정상인 세포를 세는 것이 아니라 미토콘드리아의 효소 활성 정도를 평가함으로써 세포 활성이나 기능의 활성도를 감지한다. MTT 시험은 세포의 미토콘드리아 내에 존재하여 생존세포에서만 활성이 있는 탈수소효소에 의해 노란색 수용성 기질인 MTT tetrazolium을 보라색의 MTT formazan 색소로 환원시키는 미토콘드리아의 능력을 이용하는 검사법이다. 생세포수가 증가하면 시료중의 미토콘드리아 탈수소효소의 전체적인 활성이 증가하고 이 효소활성의 증가가 청색 formazan 색소의 생성증가를 유도하기 때문에, formazan 색소와 대사활성이 있는 세포의 수와는 직선적인 상관관계를 나타낸다. formazan의 흡광도는 570nm의 파장에서 최대가 되며, 이 파장에서 측정된 흡광도는 살아있고 대사가 왕성한 세포의 농도를 반영한다고 할 수 있다. 따라서 MTT 시험법은 실험 재료가 세포를 괴사시키지는 않지만 대사 작용이나 기능에 영향을 주는 것까지 알아낼 수 있다는 것이 다른 세포독성 실험보다 장점이라고 할 수 있다(Ciapetti et al., 1993). Dahl 등은 여러 가지 의치 이장제의 세포독성을 평가하기 위해 filter diffusion test와 MTT시험을 시행하였다. Filter diffusion test에서 2시간보다는 24시간 후에 세포독성이 더 많은 제품에서 나타났고 24시간 후 결과에서 다른 시험법에서 세포독성이 발견되지 않거나 적게 나타난 제품들이 MTT 시험법에서 세포독성이 발견되거나 더 심하게 나타났다(Dahl et al., 2006). 여러 가지 세포독성 실험법들은 각각의 특성과 장단점을 가지고 있고 모든 실험법이 같은 결과를 나타내는 것은 아니다. 이번 실험에서는 세포독성 실험들의 효용성을 평가하는 것이 아니기 때문에 여러 가지 실험법 중에서 MTT 시험법으로 1일부터 4일까지의 세포독성을 평가하였다.

Polident<sup>®</sup> 의치접착크림의 농도와 시간에 따른 세포독성 실험 결과를 살펴보면, 서로 다른 농도의 group에서 시간의 흐름에 따라 모두 흡광도가 증가하였다는 세포 활성도가 증가하였다는 것을 의미한다. control group을 기준으로 1%와 2% 농도에서의 흡광도를 비교한 결과, 농도와 시간에 따라 세포독성이 있다고 판정된 것은 없었다. 이전에 의치접착제에 대한 세포독성 실험 연구들을 살펴보면, DeVengencie 등은 human gingival fibroblasts를 이용하여 세 가지 상용화된 의치접착제와 실험용 의치접착제 한 가지를 비교하는 실험에서 시간에 따른 세포독성을 측정한 결과 상용화된 한 가지 의치접착제에서 6시간 이후에 다른 의치접착제와 통계학적으로 유의성 있게 세포독성이 있다고 판단하였다(DeVengencie et al., 1997). 또한, Zhao 등은 실험용 의치접착제의 세포독성 여부를 평가한 결과 실험용 의치접착제에 세포독성이 있다고 결론지었으며(Zhao et al., 2004), Al 등은 실험을 통해 mouse fibroblast cells를 이용하여 다섯 개의 상용화된 제품에서 2시간 후에는 세포독성이 어떤 것에도 관찰되지 않았으나, 한 가지 제품에서 24시간 후 세포독성이 발견되었다고 보고하였다(Al et al., 2005). 이들 실험에서 세포독성이 나타난 제품은 모두 formaldehyde를 포함하고 있었고, 이 성분은 높은 수준의 세포독성을 지니고 있다고 알려져 있다. 이러한 제품들은 구강 내에서 사용하는 동안 formaldehyde가 배출될 가능성이 있다. 그러므로 의치접착제를 제조할 때 세포독성을 줄이기 위해서는 formaldehyde를 배제해야 한다고 말하고 있다(DeVengencie et al., 1997). 이번 실험에 사용된 Polident<sup>®</sup> 의치접착크림은 제조사에서 제시한 제조성분에 formaldehyde는 포함되지 않았다.

이번 실험에서 사용된 용출물의 농도는 1%와 2%로 제조하여 사용하였다. 이는 ISO에서 정하는 용출물의 농도보다는 낮은 농도이지만 고농도에서는 너무 점성이 있어서 실험 과정에서 세포나 미토콘드리아내로 MTT 용액이 침투하는데 방해가 될 수 있기 때문에 1%와 2%의 저농도로 조정이 필요하였다(DeVengencie et al., 1997; Al et al., 2005). 실험에서 시간이 흐름에 따라 세포 활성도는 증가하였으나 세포독성을 나타낸 것은 없었다.

의치접착크림의 인장 결합강도 실험에서 기존의 실험들은 대부분 resin block 을 이용하여 평편한 상태에서 시행되었고, 표면적도 훨씬 적었다. 이번 실험에서는 임상적인 조직을 재현하기 위하여 실제 의치의 형태를 재현하여 표면적도 넓어졌고, 텐티폼을 이용하여 치조제의 형태처럼 굴곡이 있기 때문에 접착력에 더 유리하다고 생각된다. 하지만 다른 실험들과 마찬가지로 구강 점막 조직을 재현할 수는 없기 때문에 이번 결과만으로 실제 구강 내에서 의치접착크림의 접착 강도의 수치를 예측하기는 어렵다.

본 실험에서는, 인공타액만 사용한 경우(S) 결합강도가 측정 가능한 수치로 나왔고, 의치접착크림을 단독으로 사용한 경우(A) 결합강도가 급격히 증가하였다. 의치접착크림과 인공타액을 같이 사용한 경우(A+S)에는 의치접착크림을 단독으로 사용한 경우보다 통계학적으로 유의성 있게 높은 인장 결합강도를 나타내었다 ( $p<0.05$ ).

Panagiouni등은 인공타액이 물이나 알코올 등의 다른 액체보다 인장 결합강도가 크다고 보고하였다(Panagiouni et al., 1995). 이것은 인공타액이 물보다 더 높은 점성과 더 낮은 표면장력을 지니기 때문이다. 의치의 유지에 관여하는 요소 중 하나인 계면력은 얇은 액체막이 개재된 두 개의 평행한 면이 분리될 때 발생하는 저항이다. 계면력은 계면표면장력과 점성장력으로 나눌 수 있다. 표면장력은 액체가 물질에 닿았을 때 어느 정도 젖느냐에 따라 결정된다. 구강 점막은 낮은 표면장력을 지니고 있어 액체는 쉽게 구강 점막을 적시며 얇은 막으로 퍼져나가 최대 접촉을 이루게 된다. 대부분의 의치상 재료는 구강 점막보다 높은 표면장력을 갖고 있으나, 일단 타액으로 덮이면 표면장력이 낮아지고 의치상과 타액 사이에 접촉면은 최대화된다. 그러므로 의치상과 그 하부 점막사이의 얇은 타액막은 양 접촉면과 최대 접촉을 이루려는 액체의 성질로 인하여 의치에 유지력을 제공한다. 또한 의치와 점막 사이에 매개된 물질의 점도가 증가할수록 유지력이 향상된다.

의치접착제를 사용하였을 때에도 계면력을 증가시켜 유지력을 향상시킨다. 그것은 의치와 조직사이에 위치하여 부착성과 응집성, 점도를 향상시키고, 의치와 조직사이의 기포를 없앤다. 의치접착제는 의치 내면과 하부 조직의 점막에 모두 잘

달라붙는 제재이다. 의치접착크림에서 접착기능을 하는 성분으로 Polymethyl vinyl ether-maleic acid sodium(PVM-MA), Carboxymethylcellulose sodium(CMC)이 포함되어 있다. 두 성분은 carboxyl group을 통해 결합되어 있고, CMC는 용해도가 커서 초기에 빨리 작용하지만 짧은 시간 내에 녹아서 그 기능을 상실한다. PVM-MA는 낮은 용해도 때문에 활성화되기까지 시간은 오래 걸리지만 작용 시간이 길어 의치접착제의 기능이 오래 유지되도록 한다(Zhao et al., 2004; Grasso, 2004). 이번 실험에서 타액을 쓰지 않고 의치접착크림만 사용할 때에 높은 인장 결합강도를 나타낸 것은 초기 CMC의 작용으로 나타난 것으로 생각된다.

의치접착크림에 인공타액을 첨가하면 접착제는 물을 흡수하여 팽창하게 된다. 이로 인해 의치와 하부조직 사이에 틈은 더욱더 없어지게 된다. 또한 수분을 흡수하면 중합체가 형성되어 접착제 내의 점도는 점점 증가하게 된다. 이 두 가지 작용으로 의치에 작용하는 계면장력이 현저히 증가하게 된다. Ellis 등은 여러 가지 의치접착제를 물과 혼합하여 시간에 따른 점도의 변화를 계측하였다. 혼합하여 5분에서 20분까지 시간이 경과할수록 점도는 증가하였다. 중합체 미립자는 서서히 물을 흡수하여 팽창하다가 서로 접촉하게 되고 중합체 기반(polymer matrix)이 형성되면 최대 점도에 도달하게 된다고 하였다(Ellis et al., 1980).

의치접착크림에 포함되어 있는 성분 중 Petroleum은 결합체로 첨가되어 의치상에 적용을 용이하게 해준다. 이 재료는 35℃에서 녹아 없어지지 않는다. 이러한 물에 용해되지 않는 매개체는 PVM-MA나 CMC가 용해되어 분리되지 않도록 저항하고 그 결과 좋은 결합 강도를 유지하는 역할을 한다(Koppang et al., 1995). 하지만 이러한 비용해성 성분이 의치접착크림의 장점으로만 작용하는 것은 아니다. 환자가 사용 후 세정할 때 물로는 재료가 잘 제거되지 않기 때문에 어려움을 줄 수 있다. 의치접착크림은 항상 35℃ 정도에서만 기능하는 것은 아니다. 환자가 뜨거운 음식이나 차를 마시게 되면 Petroleum은 조금씩 녹게 되고 의치접착크림은 점점 씻겨나가 그 기능을 상실하게 된다.

시간에 따른 의치접착크림의 인장 결합강도를 살펴보면, 즉시에서 1시간까지 결합강도는 유의성 있는 차이를 보이지 않았고( $p>0.05$ ), 3시간부터는 통계학적으

로 유의성있게 감소된 강도를 보였다( $p<0.05$ ). 결합강도는 12시간 후에 다시 감소하였고 1일째와 3일째에 감소하여 최소치를 보였다.

Chew는 실험실 연구에서 구강 점막을 재현하기 위해 rat skin을 사용하여 의치접착제의 결합강도를 측정하였다. 실험 결과 1시간째에 가장 높은 결합강도를 나타내고 그 이후 점점 감소하였다(Chew et al., 1990). Fløyststrand 등은 25명의 학생을 대상으로 구개부 resin plates를 제작하여 의치접착제의 유지력 실험을 하였다. 적용 직후와 3시간, 6시간, 10시간째에 확인 결과 3시간에 가장 큰 유지력을 나타냈다고 하였다(Fløyststrand et al., 1985). 그 후 그는 같은 의치접착제로 resin plate를 이용하여 실험실 연구를 하였다. resin plate에 의치접착제를 적용하고 생리식염수에 담귀서 보관하였고 시간이 흐름에 따라 결합강도를 측정하였다. 이때는 2분 째에 가장 높은 결합강도를 나타냈고 그 후로는 감소하는 양상을 보였다. 이를 토대로 그는 구강 내에서의 3시간과 실험실의 2분에서 가장 높은 결합강도를 보인다고 하였다(Fløyststrand et al., 1991).

이번 실험에서는 구강 내 환경을 재현하기 위해 물에 담구지 않고 37℃, 100% 습도에 보관하였다. 그리고 인장 결합강도 측정 시에는 구강 내에서 타액과 접촉하는 것처럼 인공타액을 소량 도포하였다. 그 결과 1시간까지 높은 결합강도를 유지하고 3시간부터 결합강도가 서서히 감소하는 결과가 나타났다. 의치와 덴티폼을 37℃, 100% 습도의 water bath에 보관하게 되면 그 때부터 계속적으로 의치접착제에 수분이 공급되어 표면에서 의치접착제의 결합강도가 증가하게 된다. 그러나 이러한 수분 공급은 의치접착제 표면을 중심으로 발생한다. 인장 결합강도 실험을 하는 동안 의치접착크립은 인공타액을 공급받게 되고 이로 인해 전반적으로 의치접착크립의 팽창이 일어나고 접착력이 최대화된다. 그 이후에 공급되는 수분이나 인공타액은 의치접착크립을 희석시키고 용해시키면서 중합체 기반(polymer matrix)을 파괴시켜 접착력은 점점 감소하게 된다. 1일이 경과한 후 결합강도는 50%이하로 감소하였고 과도하게 팽창되고 희석되어 처음의 얇고 견고한 매개체는 없어지고, 의치접착제는 단지 공간만 차지하는 역할을 하게되어 압력을 가하면 많은 양이 밖으로 빠져나와 다루기 어렵게 변화되었다.

하지만 실험실 연구에서 구강 내 환경을 재현하는데 한계가 있다. pH와 구강 내 온도, 예측할 수 없는 근육의 작용 등이 의치접착크림의 접착력에 영향을 준다. 게다가 구강 점막 조직은 가장 재현하기 어려운 것 중 하나이다.

실험의 결과를 임상적으로 적용해보면 환자는 의치접착크림을 의치 내면에 도포하고 구강 내에 침이 있는 상태로 장착하는 것이 결합력을 최대로 증가시킬 수 있다. 만약 구강 건조증 환자라면 의치접착크림을 도포한 후 물을 뿌려 의치접착제가 물을 흡수할 수 있도록 한 후에 사용하는 것이 도움이 될 것이다. 이 실험 결과에 의한 의치 접착제의 작용 시간을 고려해보면, 하루 한 번의 사용이 권장되며 만약 고온의 음식을 섭취하였다면 의치접착제가 일부 용해되어 기능이 저하될 수 있으므로 새로 교체해야할 필요가 있다. 의치접착크림을 쉽게 세척하려면 의치 접착크림이 있는 상태의 의치를 밤에 물이나 세정액에 담귀서 최대한 용해되도록 하거나 약간 뜨거운 물로 세척하는 것이 깨끗이 제거하는데 도움이 될 것이다.

그리고 의치접착제를 사용하는 환자에게는 다음 주의사항을 인지시켜야 한다. 의치접착제를 사용하면 의치 청결 유지에 더욱 신경을 써야 하는데, 의치접착제는 원하는 접착력을 얻을 수 있는 최소한의 양만 사용해야 하고 필요한 경우에만 적용 혹은 재적용을 해야 한다. 또한, 의치접착제가 골고루 균일하게 펴져야 하고 접촉하는 조직면은 항상 깨끗한 상태여야 한다. 마지막으로 주기적인 전문가의 평가가 필요하고 의치접착제를 절대 치료 용도로 사용해서는 안 된다는 것이다 (Grasso, 2004).

## V. 결 론

의치접착크림의 세포독성 여부와 유지력의 변화를 알아보기 위해 MTT 시험을 통해 의치접착크림의 농도와 시간에 따른 세포독성 여부를 평가하고, 의치에 접착크림을 도포하였을 때 유지력의 향상 정도와 시간에 따른 유지력의 변화를 알아보기 위해 인장 결합강도를 측정 비교하여 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

1. 의치접착크림은 농도와 시간에 따라 세포독성이 관찰되는 것은 없었다.
2. 의치접착크림과 인공타액을 동시에 사용한 경우 통계학적으로 가장 높은 인장 결합강도를 나타내었고, 의치접착크림을 단독으로 사용한 경우보다 인장 결합강도가 통계학적으로 유의성 있게 높았다. 이는 인공타액과 의치접착크림의 인장 결합강도의 단순 합계보다 높았다.
3. 의치접착크림과 인공타액을 동시에 사용한 군에서 1시간 후 인장 결합강도는 최대치를 기록하였고 3시간부터 인장 결합강도는 점차 감소하기 시작하여 12시간 후에는 최대 인장 결합강도의 70%, 1일 후에 50%까지 감소하였다.

이상의 결과를 토대로 의치접착크림은 1일에서 4일까지의 시간동안 세포독성을 나타내지 않았다. 그리고 의치의 유지력을 향상시키는데 효과적이며, 적용 후 1시간 이후부터는 접착력이 지속적으로 감소하고 1일 후 반으로 줄어들었다.

## VI. 참고문헌

홍석진, 박기철. 인공우식 범랑질에 대한 불소함유치약의 효과. 대한구강보건학회지 1996;20(1):1-10

Adisman IK. The use of denture adhesives as an aid to denture treatment. J Prosthet Dent. 1989 Dec;62(6):711-5.

Al RH, Dahl JE, Morisbak E, Polyzois GL. Irritation and cytotoxic potential of denture adhesives. Gerodontology. 2005 Sep;22(3):177-83.

Chew CL. Retention of denture adhesives--an in vitro study. J Oral Rehabil. 1990 Sep;17(5):425-34.

Ciapetti G, Cenni E, Pratelli L, Pizzoferrato A. In vitro evaluation of cell/biomaterial interaction by MTT assay. Biomaterials. 1993 Apr;14(5):359-64.

Dahl JE, Frangou-Polyzois MJ, Polyzois GL. In vitro biocompatibility of denture relining materials. Gerodontology. 2006 Mar;23(1):17-22.

DeVengencie J, Ng MC, Ford P, Iacopino AM. In vitro evaluation of denture adhesives: possible efficacy of complex carbohydrates. Int J Prosthodont. 1997 Jan-Feb;10(1):61-72.

Dewar MR, Parfitt GJ. Mucin content, physical properties of saliva and caries activity. J Dent Res. 1954 Dec;33(6):751-6.



Ekstrand K, Hensten-Pettersen A, Kullmann A. Denture adhesives: cytotoxicity, microbial contamination, and formaldehyde content. J Prosthet Dent. 1993 Mar;69(3):314-7.

Ellis B, Al-Nakash S, Lamb DJ. The composition and rheology of denture adhesives. J Dent. 1980 Jun;8(2):109-18.

Fløystrand F, Koppang R, Williams VD, Orstavik J. A method for testing denture adhesives. J Prosthet Dent. 1991 Oct;66(4):501-4.

Gates WD, Goldschmidt M, Kramer D. Microbial contamination in four commercially available denture adhesives. J Prosthet Dent. 1994 Feb;71(2):154-8.

Gerrard WA, Winter PJ. Evaluation of toothpastes by their ability to assist rehardening of enamel in vitro. Caries Res. 1986;20(3):209-16.

Grasso JE, Rendell J, Gay T. Effect of denture adhesive on the retention and stability of maxillary dentures. J Prosthet Dent. 1994 Oct;72(4):399-405.

Grasso JE. Denture adhesives. Dent Clin North Am. 2004 Jul;48(3):721-33, vii.

Grasso JE. Denture adhesives: changing attitudes. J Am Dent Assoc. 1996 Jan;127(1):90-6.

International Organisation for Standardisation. International standard ISO 10993-5 Biological evaluation of medical devices - part 5 : Tests for *in vitro* cytotoxicity. Geneva : International Organisation for standardisation, 1999

Jacobson TE, Krol AJ. A contemporary review of the factors involved in complete denture retention, stability, and support. Part I: retention. J Prosthet Dent. 1983 Jan;49(1):5-15.

Koppang R, Berg E, Dahm S, Real C, Fløystrand F. A method for testing denture adhesives. J Prosthet Dent. 1995 May;73(5):486-91.

Love WB, Biswas S. Denture adhesives--pH and buffering capacity. J Prosthet Dent. 1991 Sep;66(3):356-60.

Makihira S, Nikawa H, Satonobu SV, Jin C, Hamada T. Growth of Candida species on commercial denture adhesives in vitro. Int J Prosthodont. 2001 Jan-Feb;14(1):48-52.

Murray PE, García Godoy C, García Godoy F. How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated? Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2007 May 1;12(3):E258-66.

Norman RD, Stewart GP, Maroso DJ, Gephart JS, Kohut BE. In vitro measurement of vertical denture displacement by denture adhesives. Dent Mater. 1987 Dec;3(6):342-6.

Panagiotouni E, Pissiotis A, Kapari D, Kaloyannides A. Retentive ability of various denture adhesive materials: an in vitro study. J Prosthet Dent. 1995 Jun;73(6):578-85.

Swartz ML, Norman RD, Phillips RW. A method for measuring retention of denture adherents: an in vivo study. J Prosthet Dent. 1967 May;17(5):456-63.

Tang AT, Liu Y, Björkman L, Ekstrand J. In vitro cytotoxicity of orthodontic bonding resins on human oral fibroblasts. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1999 Aug;116(2):132-8.

Yankell SL. Overview of research and literature on denture adhesives. Compend Contin Educ Dent. 1984;Suppl 4:S18-21.

Zhao K, Cheng XR, Chao YL, Li ZA, Han GL. Laboratory evaluation of a new denture adhesive. Dent Mater. 2004 Jun;20(5):419-24.

## **Abstract**

### **Evaluation of changes in adhesive strength and cytotoxicity of a denture adhesive according to time**

**Ha Yoon Jung**

**Department of Dentistry**

**Graduate School, Yonsei University.**

**(Directed by Associate Professor Hong-Seok Moon, DDS, MSD, Ph.D.)**

Many denture wearers sometimes use denture adhesives to improve denture retention, stability and chewing efficiency. An ideal denture adhesive would have to be nontoxic, non irritating, and provide comfort to the oral mucosa, and the absence of odor or taste would be beneficial. The denture adhesive should be easy to apply and remove, and should function for sufficient time continuously. The material should have a neutral pH so as not to disturb tooth or normal oral flora. Also it must not have the potential to interact with other dental materials.

The purpose of this study was to evaluate the cytotoxic and adhesive properties of the denture adhesive.

For the cytotoxicity of denture adhesive cream, mouse fibroblast cells were used in MTT test. Cytotoxicity was examined according to the concentration of denture adhesive cream and period of incubation time from 1 day to 4 days. To examine adhesive property, a denture base was fabricated on the

edentulous dentiform. Denture adhesive cream was applied, and tensile bond strength was measured to evaluate improvement of retentive ability and change of retention during 1 hour to 3 hours.

Following results were drawn.

1. Denture adhesive cream had no cytotoxicity on 1%, 2% concentration and during 1 day to 4 days.
2. Tensile bond strength of denture adhesive cream was significantly higher than that of artificial saliva( $p<0.05$ ). Tensile bond strength of both denture adhesive cream and artificial saliva applied group was significantly higher than that of only denture adhesive cream applied group( $p<0.05$ ). Tensile bond strength value of both denture adhesive cream and artificial saliva applied group was higher than sum of each value of denture adhesive cream and artificial saliva.
3. Tensile bond strength of both denture adhesive cream and artificial saliva applied group was highest on immediately after application to 1 hour. Tensile bond strength gradually decreased after 3 hours, to 70% of maximum tensile bond strength at 12 hours and to 50% at 1 day after.

Within the limitation of this study denture adhesive cream was effective to improve denture retention and more effective in improvement of denture retention when acted with saliva. After 1 hour of application, its adhesive strength continuously decreased, and after 1 day, adhesive strength decreased to half.

---

Key words : denture adhesive, tensile bond strength, cytotoxicity, MTT test